

Sur la présence en France
de *TETRASPORIDIUM JAVANICUM* MOEBIUS
(CHLOROPHYTA, EUCHLOROPHYCEAE, TETRASPORALES)
et sa position systématique

Alain COUTÉ* et Beatriz TRACANNA**

RÉSUMÉ. — Dans ce travail, les auteurs signalent la présence, dans des étangs bretons, de *Tetrasporidium javanicum* Moebius, genre et espèce nouveaux pour la France. Ils étudient, à l'aide du microscope électronique à transmission, l'ultrastructure des flagelles immobiles observés dans certaines cellules. Sur la base des résultats obtenus, la position systématique du genre et de l'espèce est discutée. Une nouvelle espèce est créée, *Tetrasporidium fottii*, à propos du taxon décrit par FOTT et al. (1965), ce qui porte à trois le nombre d'espèces de ce genre.

SUMMARY. — In this paper the authors report *Tetrasporidium javanicum* Moebius for the first time in Brittany ponds of France. The ultrastructural morphology of the motileless flagella from some vegetative cells with the help of T.E.M., is studied. At the light of these data, the taxonomic position of the genus and its species, is discussed. The alga described by FOTT et al. (1965) is established as a new species, *Tetrasporidium fottii* Couté et Tracanna. So three species for this genus are recorded.

INTRODUCTION

Au cours d'une étude systématique des florules phytoplanctoniques de certains plans d'eau du Finistère Nord, nous avons récolté, en assez grande quantité, une algue verte coloniale signalée seulement en Tchécoslovaquie pour l'Europe. Il s'agit de *Tetrasporidium javanicum* Moebius organisme nouveau pour la

* Laboratoire de Cryptogame, Muséum National d'Histoire Naturelle, 12 rue Buffon, 75005 Paris. — L.A. n° 257 (CNRS).

** Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, 4000 San Miguel de Tucuman, República Argentina. (Bourse Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina CONICET).

France*. La plupart des cellules des colonies présentant des flagelles immobiles, il nous a semblé intéressant de tenter d'en étudier l'ultrastructure à l'aide du microscope électronique à transmission (= M.E.T.) afin de confirmer ou d'infirmer son appartenance à l'ordre des Tétraspores.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les exemplaires observés proviennent d'échantillons récoltés au filet à plancton le 31/10/1980 dans l'étang du Moulin neuf, entre Plounérin et Plouégat-Moysan, et dans le réservoir de Saint Michel près de Botmeur.

La fixation réalisée *in situ* a été effectuée à l'aide d'une solution aqueuse à 4 % de formaldéhyde neutralisé. Une fois fixées, les colonies ont été isolées sous la loupe binoculaire, puis, après un lavage abondant à l'eau bidistillée, elles ont été postosmiées avec une solution aqueuse de tétraoxyde d'osmium à 1 % pendant 30 minutes. Après un nouveau lavage à l'eau bidistillée, elles ont été déshydratées à l'aide de solutions aqueuses d'éthanol de concentration croissante jusqu'à l'alcool pur, et finalement incluses dans du Spurr.

Les observations et les électromicrographies ont été faites sur le microscope électronique à transmission «Hitachi type HU II A» du Laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle.

Les dessins et les photographies de microscopie photonique ont été réalisées à l'aide d'un microscope WILD M 20 équipé d'une chambre claire et d'un appareillage de prise de vue automatique Microphotoautomat.

OBSERVATIONS

En microscopie photonique, nos échantillons se présentent sous forme de colonies gélatineuses, d'un vert vif. Les jeunes thalles sont de forme cylindrique et atteignent 1 à 2 mm de longueur. Ils sont généralement fixés. Les thalles âgés constituent des masses foliacées, librement flottantes, fortement clathrées (pl. II, fig. 1) qui peuvent avoir jusqu'à 5 cm de longueur. Au sein de la gelée commune, sont distribuées, sans ordre, des cellules globuleuses sans contact les unes avec les autres (pl. I, fig. 1 à 4 et pl. II, fig. 2 à 4).

Les cellules végétatives, délimitées par une paroi bien définie de nature gélatineuse, sont sphériques à ovoïdes (longueur : 6-10 μm ; largeur : 5-10 μm). La plupart d'entre elles présentent, insérés au niveau d'une sorte de papille, deux prolongements filamenteux (pl. I, fig. 2 à 4 et pl. II, fig. 4), d'égale longueur, droits ou recourbés et immobiles même dans les exemplaires fraîchement récoltés. Certaines cellules, munies ou non de prolongements filamenteux,

* Madame J. CABIOCHI, maître assistante, spécialiste en Algologie marine de la Station Biologique de Roscoff nous a signalé (communication orale) avoir, sans doute, rencontré le genre *Tetrasporidium* dans d'autres étangs bretons. Nous la remercions vivement, à cette occasion, pour les renseignements qu'elle a bien voulu nous communiquer.

montrent parfois, dans la région située à la base de la papille, deux vacuoles contractiles (pl. I, fig. 4).

Le chloroplaste, urcéolé, est caractérisé par un (parfois deux) volumineux pyrénolide localisé dans la région antapicale de la cellule (pl. I, fig. 2 à 4 et pl. II, fig. 4). Le noyau, pour sa part, a une position centrale ou antérieure.

En microscopie électronique à transmission, nos investigations ont été limitées en raison de la qualité du fixateur utilisé. Toutefois elles apportent des renseignements intéressants et d'une réelle importance sur cet organisme jamais étudié auparavant à l'aide de cette technique. En effet, les deux prolongements filamenteux insérés dans la région antérieure de la cellule, au niveau d'une papille (pl. II, fig. 5), révèlent, en coupe longitudinale (pl. III, fig. 1-2-3 et 5) et en coupe transversale (pl. III, fig. 4), une ultrastructure classique de flagelle avec un doublet central de tubules et neuf doublets périphériques disposés selon un cercle de 150 à 250 nm de diamètre. Chacun de ces flagelles montre, de plus, un épaississement important (pl. III, fig. 3 à 5) excentrique, engainant l'appareil tubulaire (pl. III, fig. 4). Sur des coupes tangentielles (pl. III, fig. 1, 3 et 5), cette gaine présente une striation très régulière, continue depuis la base jusqu'à l'apex flagellaire et dont la nature écailleuse ou tubulaire n'a pu être élucidée ici.

A la base de chaque flagelle, on observe un cinétosome de structure classique (pl. III, fig. 2 et 5) avec neuf triplets de tubules périphériques disposés selon un cercle de 150 à 250 nm de diamètre. Un septum transverse sépare chaque cinétosome de son flagelle susjacent.

En M.E.T., l'organisation du chloroplaste, unique, apparaît faite de groupes de nombreux tylacoïdes. Le pyrénolide dont la partie centrale, dense aux électrons, est souvent traversée par un ou plusieurs tylacoïdes (pl. II, fig. 5), se présente bordé de massives coques d'amidon.

Les coupes passant par l'axe antéro-postérieur, permettent de constater que la papille n'est autre qu'un épaississement plus important de la paroi cellulaire dont la nature mucilagineuse est confirmée par la transparence aux électrons (pl. II, fig. 5).

DISCUSSION

Le genre *Tetrasporidium* a été créé par MOEBIUS en 1893 pour une algue dulçaquicole trouvée à Java. Les caractéristiques en étaient la couleur verte, le thalle spongieux irrégulièrement perforé, renfermant, au sein d'un mucilage commun, une multitude de cellules globuleuses de 6 à 7 μm de diamètre, avec un chloroplaste unique en forme de coupe et un pyrénolide localisé dans la région postérieure. Pour rappeler son origine, MOEBIUS la dénomma *Tetrasporidium javanicum*.

Depuis, plusieurs auteurs ont signalé cet organisme en Inde (M.O.P. IYENGAR, 1932; M.S. RANOHAWA, 1962; Y.S.R.K. SARMA et G. SURYANARAYANA, 1969 et R.S. PANDEY, G.L. TIWARI et D.C. PANDEY, 1980), au Pakistan oriental (actuellement Bangladesh) (A.K.M. NURUL ISLAM, 1970-

1972), en Chine (C.C. JAO, 1947) et enfin en Tchécoslovaquie (B. FOTT, M. NOVAKOVA et T. KALINA, 1965).

Une autre espèce, *Tetrasporidium lundii* a été décrite récemment de l'Inde par R.S. PANDEY, G.L. TIWARI et D.C. PANDEY (1980). Elle diffère de la précédente essentiellement par les dimensions plus importantes du thalle (jusqu'à 33 cm de longueur), son aspect en ballonnets non clathrés dans les stades juvéniles et la taille plus importante des cellules végétatives (7 à 18 µm de diamètre).

La découverte en France de *Tetrasporidium javanicum* est donc particulièrement intéressante puisque ce genre n'était pas connu d'Europe occidentale et était plutôt considéré comme tropical à sub-tropical.

De ce qui précède, on pourrait admettre que le genre ne renferme que deux espèces : *T. javanicum* Moebius et *T. lundii* Pandey et al. Toutefois, parmi tous les exemplaires de *T. javanicum* décrits et illustrés par les divers auteurs, celui récolté par FOTT et al. nous semble présenter une différence fondamentale. En effet, dans nos échantillons comme dans ceux de MOEBIUS, IYENGAR, SARMA et al., NURUL ISLAM et PANDEY et al., les cellules, qu'elles soient végétatives ou qu'elles participent à la multiplication, ont un noyau central et un pyrénocyste postérieur. Celles décrites par FOTT et al. (1965, pl. 26, fig. g et h; pl. 27, fig. b et f à m) montrent un pyrénocyste central ou latéral et un noyau postérieur. Même dans les cellules sans flagelles, le noyau est toujours au pôle opposé par rapport aux vacuoles contractiles qui déterminent le pôle antérieur. Ce caractère qui semble stable dans les échantillons de FOTT et al. justifie, à notre avis, la séparation de ce taxon de tous les autres décrits sous le nom de *Tetrasporidium javanicum*. Nous appellerons donc l'algue de FOTT et al. : *Tetrasporidium fottii* nov. sp. (= *Tetrasporidium javanicum* sensu FOTT (FOTT, B., M. NOVAKOVA et T. KALINA, 1965, tab. XXV à XXVIII), non *Tetrasporidium javanicum* Moebius (MOEBIUS, M., 1893).

Diagnose :

Thalli usque ad 15 cm long.; novae coloniae vesiculosae; vesiculae maturae in laminas planas, perforationes latae, se franguntur; cellulae in maturis thallis irregulariter dispositae; pseudocilia nulla sed duo immobiles flagella in quaque vegetativa cellula et in anteriore parte, duae contractiles vesiculae.

Cellulae sphaericae aut ellipsoideae, 6,4-9,5 µm long. Parietalis chromatophorus cum uno centrale vel laterale pyrenoïde; posterior nucleus.

Asexualis reproductio biflagellatis zoosporis et autosporis. Bas. et iconotypus : Tetrasporidium javanicum Moebius sensu FOTT, B., M. NOVAKOVA et T. KALINA, 1965. Preslia, 37 : 380-386, tab. XXV ad XXVIII.

In Velky Palenec et Smyslov paludibus, Tchécoslovaquia.

Nous rapporterons à *Tetrasporidium javanicum* Moebius les algues décrites par MOEBIUS, IYENGAR, SARMA et al., NURUL ISLAM, celle appelée *T. javanicum* par PANDEY et al. et enfin, la nôtre. Le taxon signalé par JAO n'est malheureusement pas illustré, ce qui est regrettable. L'aspect du thalle est en effet mentionné comme un peu différent et l'habitat est l'eau courante alors que pour tous les autres il s'agit d'eau stagnante. La position du noyau et

du pyrénocïde n'est aucunement précisée. Il en est d'ailleurs de même pour les exemplaires de RANDHAWA. Il est donc impossible de se prononcer à propos de ces deux taxons.

Le tableau 1 regroupe les caractères cytologiques et morphologiques des différents exemplaires mentionnés ici.

La position systématique de *Tetrasporidium javanicum* a été l'objet de nombreuses controverses. Ainsi, MOEBIUS rapproche cet organisme de *Tetraspora godeyi* Kütz. en raison de l'aspect général du thalle et de *Tetraspora lubrica* (Roth) Ag. à cause de la structure des cellules et du mode de division. BLACKMAN et TANSLEY (1902) l'ont classé dans la famille des *Tetrasporaceae* alors que CHODAT (1902) l'a considéré comme une espèce du genre *Tetraspora*. Plus tard, WILLE (1909) et PRINTZ (1927) l'ont rangé dans la famille des *Tetrasporaceae* avec les « genres peu connus et incertains », IYENGAR l'a situé avec les *Palmellaceae*, famille regroupant des algues vertes palmelloïdes auxquelles manquent les pseudoflagelles des *Tetrasporaceae*, au voisinage de *Palmodyctyon viride* Kütz. JAO l'a aussi placé comme BOURRELLY (1958) dans cette même famille. Pour FOTT et al., *Tetrasporidium javanicum* est bien une tetrasporale de la famille des *Asterococcaceae* caractérisée par des cellules solitaires ou coloniales vivant dans des enveloppes mucilagineuses simples ou composites, flagellées ou non mais pouvant s'isoler du mucilage pour donner des cellules reproductrices mobiles. Pour leur part, SARMA et al. et NURUL ISLAM l'ont placé dans la famille des *Palmellaceae*. En 1972, BOURRELLY l'a classé dans la famille des *Gloeocystaceae* qui correspond à l'ancienne famille des *Palmellaceae* privée des genres ne possédant pas de vacuoles contractiles. Enfin, dans leur récent travail, PANDEY et al. rangent cet organisme dans l'ordre des Tetrasporales sans référence à la famille.

A partir de nos observations en microscopie photonique et électronique à transmission, et en comparant les descriptions de *Tetrasporidium javanicum* données par les différents auteurs, il est possible de tirer les conclusions suivantes :

- l'algue étudiée n'est pas une *tetrasporaceae* et de ce fait n'appartient pas au genre *Tetraspora* dont la caractéristique est la présence de pseudoflagelles. Dans les cellules végétatives de nos échantillons, les flagelles immobiles observés, assimilables à des pseudoflagelles, montrent une ultrastructure caractéristique de véritables flagelles. Ces cellules flagellées sont, sans aucun doute, de futures zoospores ou des gamètes. On peut penser qu'il en est de même pour les cellules à flagelles immobiles décrites par FOTT et al.

- l'algue étudiée est bien une *gloeocystaceae* caractérisée par son thalle palmelloïde colonial, les vacuoles contractiles et ses zoospores.

- il s'agit bien du genre *Tetrasporidium*, les colonies étant bien en forme de lame mince avec deux couches de cellules dispersées dans un mucilage homogène clathré. Aucune confusion ne peut être faite avec le genre voisin, *Gloeococcus*, dont les cellules ont toutes des flagelles, sans exception, ce qui n'est pas le cas dans nos exemplaires. Elles sont de plus mobiles dans la gelée alors que les nôtres sont immobiles

- trois espèces caractérisent donc actuellement ce genre :

	MÖEBIUS	IVENGAR	JAO	RANDHAWA	FOTT et al.	SARMA et al.	N. ISLAM	PANDEY et al.		COUTÉ et al.
	1893	1932	1947	1962	1965	1969	1970-72	1980		1981
								I. jav.	I. l.	
<u>THALLE/</u>										
longueur	2 cm	12-13 cm	-?	-?	15 cm	8-12 cm	33-35 cm	-?	33 cm	5 cm
couleur	-?	vert pâle	-?	-?	-?	vert sombre	vert pâle	-?	vert	vert vif
morphologie	réticulé	réticulé	rét. all.	réticulé	réticulé	réticulé	rét.	rét.	rét. ballon	réticulé
habitat	e. stag.	E. stag.	e. cour.	e. cour.	e. stag.	e. stag.	e. stag.	e. stag.	e. stag.	e. stag.
<u>CELL. VEGET.</u>										
dimensions	6-7 µm	7-11.5 µm	-?	7,6-11,4µm	6,4-9,5 µm	8-12 µm	6,7-11,6µm	7-11 µm	7-18µm	6-10 µm
plaste	1 urcéolé	1 ur.	-?	1 urcéolé	1 urcéolé	1 urcéolé	1 urcéolé	1 ur.	1 ur.	1 urcéolé
pyrénoïde	1 post.	1 post.	-?	-?	central ou latéral	1 post.	-?	-?	1 post.	1 post.
noyau	1 cent.	1 cent.	-?	-?	1 post.	1 cent.	-?	-?	1 cent.	1 cent.
vacuole contractile	-?	2 antér.	-?	2 antér.	2 antér.	-?	0	2 antér.	0	2 antér. parfois
flagelle	-?	0	-?	-?	2 immobiles parfois	0	0	0	0	2 immobiles parfois
stigma	-?	0	-?	0	0	0	0	0	0	0
pseudo-flagelle	-?	0	-?	-?	0	0	0	0	0	0

Tableau 1. Signification des abréviations : cm: centimètre; rét. all. : réticulé allongé, e. stag. : eaux stagnantes; e. cour. : eaux courantes; ur.: urcéolé; post. : postérieur; cent. : central; antér. : antérieur; T. jav. : *Tetrasporidium javanicum*; T. l. : *Tetrasporidium lundii*.

Tetrasporidium javanicum Moebius
Tetrasporidium lundii Pandey et al.
Tetrasporidium fottii nov. sp.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BLACKMAN, F.F. et TANSLEY A.G., 1903 — A revision of the classification of the green algae. *New Phytol.* : 1-64, 1902.
- BOURRELLY, P., 1958 — Initiation pratique à la systématique des algues d'eau douce. *Bull. microsc. appl.* 8, 1 : 21-32.
- BOURRELLY, P., 1972 — Les algues d'eau douce. Initiation à la systématique. 1. Les Algues Vertes. Boubée Ed., Paris, 572 p.
- CHODAT, R., 1902 — Algues vertes de la Suisse. *Mater. Flore cryptog. Suisse*, 1, 3 : 373 p.
- FOTT, B., M. NOVAKOVA et T. KALINA, 1965 — Morphology, reproduction and occurrence of a tropical alga, *Tetrasporidium javanicum* Moebius (*Chlorophyceae*). *Preslia*, 37 : 380-386.
- IYENGAR, M.O.P., 1932 — Two little-known genera of green algae (*Tetrasporidium* and *Ecbalocystis*). Part 1. *Tetrasporidium javanicum* Moebius. *Ann. Bot., Oxford*, 46, 182 : 191-199.
- JAO, C.C., 1947 — Studies on the freshwater algae of China. XVI. *Protococcales* from Kwangsi. *Bot. Bull. Acad. Sinica*, 1 : 243-254.
- MOEBIUS, M., 1893 — Beitrag zur Kenntnis der Algenflora Javas. *Ber. Dtsch. Bot. Ges., Berlin*, 11, 2 : 118-139.
- NURUL ISLAM, A.K.M., 1970-1972 — The genus *Tetrasporidium* in East Pakistan. *Rev. Algol. n. s.*, 10, 1 : 85-89.
- PANDEY, R.S., G.L. TIWARI et D.C. PANDEY, 1980 — Observations on two species of *Tetrasporidium* Moebius (Chlorophyta, Tetrasporales). *Nova Hedwigia*, 32, 4 : 779-786.
- PRINTZ, H., 1927 — *Chlorophyceae*, in ENGLER et PRANTL, *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, Leipzig, 3 : 1 463.
- RANDHAWA, M.S., 1962 — A note on two interesting freshwater algae from Kerala State, India. *Curr. Sci.*, 31 : 259.
- SARMA, Y.S.R. et G. SURYANARAYANA, 1969 — Observations on morphology, reproduction and cytology of *Tetrasporidium javanicum* Moebius from North India. *Phycologia*, 8, 3/4 : 171-175.
- WILLE, N., 1909 — *Chlorophyceae* und *Conjugatae*, in ENGLER et PRANTL, *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, Nachtr. zum 1. Teil, Abt. 2 : 192 p.

LÉGENDES DES PLANCHES

PLANCHE I

Tetrasporidium javanicum Moebius, microscopie photonique. Fig. 1 : fragment d'un lobe du thalle. Fig. 2 à 4 : différents types de cellules rencontrées dans la colonie.

PLANCHE II

Tetrasporidium javanicum Moebius, microscopie photonique et microscopie électronique à transmission. Fig. 1 : vue d'ensemble d'un fragment clathré du thalle. Fig. 2 : répartition des cellules dans une portion du thalle. Fig. 3 : quelques cellules végétatives. Fig. 4 : détails d'une cellule végétative flagellée (les flèches simples indiquent les flagelles) et d'une cellule sans flagelles (la flèche double montre les vacuoles contractiles). Fig. 5 : coupe sagittale d'une cellule végétative au M.E.T. Les flèches simples montrent les bases des flagelles. P : pyrénolide; C : chloroplaste; Pa : papille; Pm : paroi mucilagineuse.

PLANCHE III

Tetrasporidium javanicum Moebius, microscopie électronique à transmission. Fig. 1 : coupe longitudinale tangentielle d'un flagelle. Fig. 2 : coupe longitudinale axiale d'un flagelle. S : septum transverse; N : noyau. Fig. 3 : détail d'une coupe longitudinale axiale d'un fragment de flagelle. La flèche indique le doublet central de tubules. Fig. 4 : coupe longitudinale d'une cellule montrant les deux flagelles sectionnés transversalement. Les flèches indiquent les gaines épaissies enrobant les flagelles. M : mitochondrie. Fig. 5 : coupe longitudinale dans des fragments de deux flagelles. N : noyau. La flèche indique le doublet central de tubules.

Pour toutes les planches, les valeurs des échelles sont exprimées en μm (micromètres).

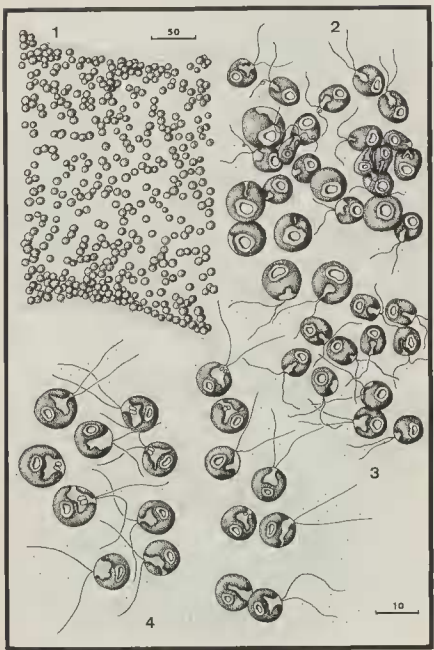


Planche I

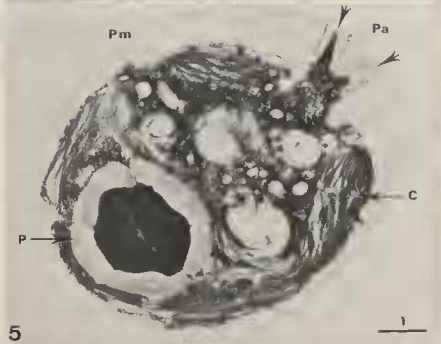
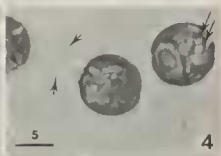
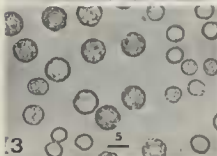
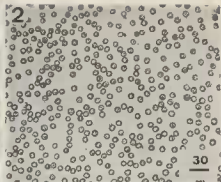
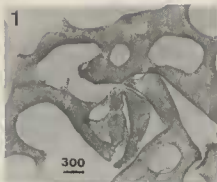


Planche II

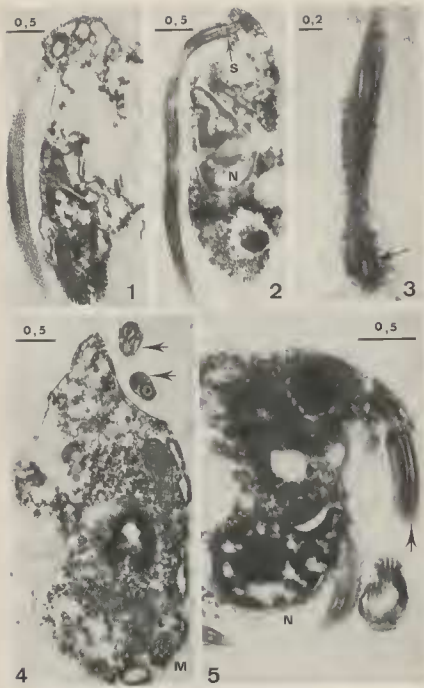


Planche III